

боко укореняющихся многолетних сорняков, однолетних и двухлетних широколистных сорняков, водных сорных растений.

Разработка экспрессных и точных методов выявления загрязняющих веществ является одним из наиболее актуальных направлений развития санитарной химии.

Существующая методика определения микроколичеств глифосата в объектах окружающей среды основана на экстракции его из анализируемых проб, очистки экстрактов в системе несмешивающихся растворителей и на ионообменных смолах, проведение доколочной дериватизации глифосата и последующем количественном определении гербицида в виде флуорогенного производного методом ВЭЖХ с применением флуоресцентного детектора. Длительность и многостадийность проведения анализа, потери определяемого вещества в ходе пробоподготовки, и, как следствие, возможность получения неправильных результатов затрудняет использование данной методики в лабораториях, осуществляющих контроль остаточных количеств пестицидов в объектах окружающей среды и продовольственном сырье.

Разработанная нами методика основана на извлечении глифосата водой из объектов исследования, очистке экстрактов диэтиловым эфиром в щелочной среде 0,05 М тетраборатного буферного раствора, и проведении реакции дериватизации с флуорогенным реактивом (раствор ФМОС в ацетонитриле концентрацией 1 г/л) в среде ацетонитрила с последующей очисткой полученного продукта реакции диэтиловым эфиром от избытка реагента. Количественное определение осуществляют методом ВЭЖХ с использованием флуоресцентного детектора. Разработанная методика отличается упрощенной схемой пробоподготовки и более низкими пределами обнаружения глифосата, которые составляют: вода – 0,005 мг/л, воздух рабочей зоны – 0,0005 мг/м³, атмосферный воздух – 0,00025 мг/м³, растительный материал – 0,02 мг/кг.

Разработанная методика позволит с высокой точностью контролировать содержание данного пестицида в объектах окружающей среды и продукции растениеводства с применением доступного современного аналитического оборудования, что позволит минимизировать негативное влияние применяемого пестицидного препарата на здоровье населения, окружающую среду и послужит основой для производства экономически безопасных пищевых продуктов.

Zalutskaya N. F., Turko M. S., Ivashkevich L. S.

DETERMINATION OF GLYPHOSATE IN THE ENVIROMENT BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

Sensitive and selective method for the determination of trace chemical compound glyphosate in the enviroment has developed.

Зиновкина В. Ю.¹, Глинская Т. Н.²

¹Научно-практический центр гигиены,

²Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий,

г. Минск, Республика Беларусь

ИНТЕГРАЛЬНЫЙ ПОКАЗАТЕЛЬ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ЛИЗОСОМАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ГЕПАТОЦИТОВ ПРИ ВНЕПЕЧЕНОЧНОМ ХОЛЕСТАЗЕ В СТАДИЮ УСТОЙЧИВОГО ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ОРГАНА

Структурно-функциональные изменения лизосомальной системы (ЛС) гепатоцитов и соотношение субпопуляций органелл зависит от их участия в процессах повреждения и регенерации на клеточном и субклеточном уровне. Проведено комплексное изучение ЛС гепатоцитов на модели внепеченочного холестаза (ВХ), которое позволило дать оценку морфофункциональным изменениям неоднородной ЛС гепатоцитов и определить механизмы формирования компенсаторно-приспособительных реакций на субклеточном уровне в стадию устойчивого функционирования органа (вторая стадия). В эксперименте ВХ моделировали путем перевязки и перерезки общего желчного протока под наркозом. Изучались количественные, количественно-информационные и качественные сдвиги в субпопуляциях ЛС с использованием электронограмм (ЭГ) полутонких срезов печени. Функциональное состояние ЛЗ оценивали по общей активности (ОА) лизосомальных гидролаз (ЛЗГ): кислых катепсинов (К.К), кислой РНК-азы (К.РНК-азы), кислой ДНК-азы (К.ДНК-азы), β-Д-галактозидазы (β-Д-гал.), кислой фосфатазы (К.Ф). В начале второй стадии ВХ (7-е сутки) общее количество ЛЗ значительно увеличивалось (135% контроля) за счет роста субпопуляции первичных форм, количество которых в 2 раза превышало исходный уровень (в поле зрения 10–16 органелл). Соотношение первичные:вторичные ЛЗ составило 68,9:31,1%. К концу второй стадии (14-е сутки) общее количество ЛЗ уменьшалось и становилось ниже контрольных значений на 7,3%, но преобладали первичные ЛЗ. Соотношение первичные:вторичные формы составило 58,5:41,5%. С 7-го по 14 день отмечалось

уменьшение средней площади первичных ЛЗ (на 17,1 и 21,7% соответственно, $p < 0,01$) за счет увеличения мелких ЛЗ 1–2 классов, субпопуляции которых являлись детерминированными. Субпопуляция вторичных ЛЗ на 7-е сутки была представлена, преимущественно, гетерофаголизосомами, на 14-е сутки – аутофаголизосомами (в поле зрения 4–5 органелл). Возрастала гетерогенность субпопуляций вторичных форм, в большей степени на 14-е сутки ВХ. С помощью интегрального показателя – условной ферментативной мощности (УФМ) ЛЗ получены представления о механизмах компенсации на субклеточном уровне. С этой целью ОА ЛЗГ делилось на общее число ЛЗ, выявленное в гепатоцитах в среднем у 1-го животного в 22 ЭГ. В начальный этап второй стадии концентрация ЛЗГ в органеллах становилась ниже контрольных значений в среднем на 13,9%. К концу второй стадии УФМ возрастала, особенно значительно для β -Д-гал. (на 69,9%) и К.К (на 55,3%), в меньшей степени К.Ф (на 32,2%) и К.РНК-азы (на 27,7%). Таким образом, в начальный период второй стадии компенсация осуществлялась, преимущественно, за счет усиления синтеза ЛЗ, каждая из которых содержала сравнительно небольшое количество ферментов. К концу второй стадии увеличивалась ферментативная мощность каждой отдельной ЛЗ, что позволяло с участием меньшего числа органелл достичь компенсаторно-приспособительного эффекта на субклеточном уровне.

Zinovkina V. U., Glinskaya T. N.

INTEGRAL INDICATORS OF STRUCTURAL AND FUNCTIONAL CHANGES OF LYSOSOMAL SYSTEM HEPATOCYTE IN CHOLESTASIS AT THE STAGE OF COMPENSATION

Were studied mechanisms of compensatory and adaptive processes of hepatocyte lysosomal system in extrahepatic cholestasis at the stage of compensation.

Киселев П. А.^{1, 2}, Кисель М. А.¹

¹*Институт биоорганической химии НАН Беларуси,*

²*Международный государственный экологический институт имени А.Д. Сахарова
Белорусского государственного университета, г. Минск, Республика Беларусь*

ГЕКСИЛОВЫЙ ЭФИР 5-АМИНОЛЕВУЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ И ПУТИ ЕГО СТАБИЛИЗАЦИИ

Эндогенная 5-аминолевулиновая кислота (5-АЛК) является первичным предшественником порфиринов и корринов у животных, а также хлорофиллов у растений. Экзогенная 5-АЛК при низких дозах (около 1 мг/кг) способствует профилактике и лечению хронических заболеваний человека, обусловленных нарушениями гомеостаза гема. При более высоких концентрациях, достигающих 20 мг/кг, 5-АЛК находит применение в фотодинамической диагностике и терапии онкологических патологий. В этом случае местное либо системное введение 5-АЛК в организм приводит к существенному усилению синтеза и накоплению протопорфина IX (PpIX) преимущественно в опухолевых органах и тканях. Последующее облучение PpIX светом видимого или ближнего инфракрасного диапазонов в присутствии кислорода сопровождается трансформацией последнего в синглетную форму, а также появлением других реакционноспособных частиц, что в совокупности вызывает некроз злокачественных новообразований. Однако, применение 5-АЛК в фотодинамической терапии осложнено двумя обстоятельствами. Во-первых, 5-АЛК обладает низкой липофильностью, что снижает эффективность ее прохождения через плазматическую мембрану и, тем самым, биодоступность. Во-вторых, аминолевулиновая кислота неустойчива при физиологических значениях pH. И, если первое обстоятельство минимизируется модификацией самой 5-АЛК, заключающейся в синтезе и использовании ее эфиров, которые легко гидролизуются внутриклеточными эстеразами, то оптимизация стабильности основана на создании и применении специальных носителей. В качестве таковых привлекают повышенное внимание липосомы, различного типа мицеллы и полимеры, а также дендримеры и циклодекстрины (ЦД).

Целью настоящей работы стало повышение стабильности гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты при физиологических значениях pH путем создания его комплекса включения с β -циклодекстрином.

В результате по оригинальной методике наработан в препаративных количествах комплекс включения гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты в β -циклодекстрин. Методами ¹H-ЯМР и масс-спектрометрии охарактеризована структура и стехиометрия комплекса, а также определена константа его устойчивости. На основании полученных данных доказано выраженное стабилизирующее влияние циклодекстрина на ГЭ АЛК в нейтральных и слабо щелочных водных средах, что делает возможным использование последнего не только в виде гидрохлорида, но и при физиологических значениях pH, характерных для инъекционных растворов.